



Title	Interferon- α suppresses hepatitis B virus enhancer II activity via the protein kinase C pathway
Author(s)	名和, 誠敏
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59839
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

の誘導は阻害されなかった。また PKC 活性剤である phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) は phospho-STAT1 および ISG を誘導することなく En II 活性を低下させた。以上のことから、IFN- α によるEn II 活性の抑制において STAT 1 および ISG の関与は否定的と考えられた。

〔総括〕

IFN- α は、ISG 誘導経路とは独立した PKC 経路の活性化を介して、Enhancer II の転写活性を抑制すると考えられた。

【90】

氏名　名和　謙

博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第 25916 号
学位授与年月日	平成 25 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学位論文名	Interferon- α suppresses hepatitis B virus enhancer II activity via the protein kinase C pathway (Interferon- α は protein kinase C pathway の活性化を介して、B 型肝炎ウイルスの enhancer II の転写活性を抑制する)
論文審査委員	(主査) 教授 竹原 徹郎 (副査) 教授 松浦 善治 教授 上田 啓次

論文審査の結果の要旨

B 型肝炎ウイルス (HBV) 複製時の転写過程において、その活性を増幅させるエンハンサー (En) 領域が HBV genome 内には 2ヶ所存在する。この内 En I は IFN- α により活性が抑制されることが示されているが、HBV の肝指向性を規定している En II と IFN- α との検討についての報告は存在しなかった。

本研究では、HBV の En II 配列を組み込んだレポーターブラスミドを作製して実験系を組み、IFN- α が En II 活性を抑制することを証明し、その作用機序を検討した。IFN- α の En II 活性抑制の作用部位は nt 1703-1727 および nt 1746-1770 の 2つの領域を中心であることが明らかとなった。また IFN- α による En II 活性の抑制は PKC 経路の活性化を介して起こり、JAK-STAT-ISG の誘導という従来のウイルス抑制経路とは独立したものであることが示された。IFN- α の作用機序は多彩であるが、JAK-STAT-ISG の誘導以外にウイルス増殖を抑制する機序があることを示した報告は数少ない。本研究は HBV の複製において重要な役割を担う En II 活性が IFN- α により抑制されることを明らかにした初めての報告であり、IFN- α が持つ多彩な抗ウイルス活性の機序の一端を解明した意義ある研究であると考えられ、博士（医学）の学位に値する。

論文内容の要旨

〔目的〕

B 型肝炎ウイルス (HBV) には、複製時の転写を増強させるエンハンサー (En) 領域が 2ヶ所存在し、En I はインターフェロン (IFN)- α により活性が抑制されるという報告がある。しかし重要な複製中間体である pregenome RNA の產生に関わる En II と IFN- α との検討はなされていない。今回我々は IFN- α が En II 活性に与える影響を検討し、その機序について解析を行った。

〔方法ならびに成績〕

HBV の En II 配列を組み込んだレポーターブラスミドを作製し、それをヒト肝癌細胞株 Huh-7 に導入して、培養液中に IFN- α を添加した後の En II 活性の変化を Luciferase Assay にて検討した。また En II 領域に欠失や変異を入れた種々のプラスミドを作製し、IFN- α の作用部位を検討した。IFN- α により様々なシグナルが活性化されることが知られているが、いずれのシグナルが関与するかを、各々の阻害剤を併用して検討を行った。En II 配列の組み込みにより著明に転写活性は増強されたが、その活性は IFN- α 添加により約 60% に低下した。En II 領域の nt 1703-1727 および nt 1746-1770 の両領域を欠失させると、IFN- α による抑制効果がほぼ消失した。種々の阻害剤を併用したところ、プロテインキナーゼ C (PKC) の阻害剤である Staurosporine, Rottlerin, Gö6976 併用によって、IFN- α による En II の抑制効果は有意にブロックされた。IFN- α により PKC- α/β および δ が活性化されていたため、IFN- α による En II 活性の抑制には PKC の複数の isoform が関与していると考えられた。IFN- α に PKC 阻害剤を併用しても phospho-STAT1 は発現され、Rottlerin 併用により IFN- α による ISG 誘導は阻害されたが、他の PKC 阻害剤では ISG